

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 235—242

Automation bei klinisch-chemischen Analysen

VON R. HAECKEL

Institut für Klinische Chemie (Geschäftsführ. Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Büttner) Medizinische Hochschule Hannover

(Eingegangen am 20. Januar 1972)

Nach einer Interpretation der Begriffe „Automation“ und „Analysenautomat“ wird versucht, die verschiedenen von der Industrie konstruierten Analysensysteme in ein Schema einzuordnen. Anschließend werden Probleme der Qualitätskontrolle mechanisierter Analysen unter besonderer Berücksichtigung von Drift- und Verschleppungseffekten aufgezeigt. Verschiedene Möglichkeiten der Korrektur von Verschleppungsfehlern wurden aus der Literatur zusammengestellt.

Automation in clinical chemical analyses

The concepts of „automation“ and of „automated analysis systems“ are interpreted. A common scheme is proposed to classify the various commercially constructed systems. Finally, problems of quality control in mechanized analysis procedures are discussed, with special attention to drift and carry-over effects. Various possibilities for correction of errors due to carry-over are compiled from the literature.

Die explosive Entwicklung der Biochemie der letzten 20 Jahre, die zunehmende Bedeutung der Vorsorgemedizin und eine Verbesserung der Analysenqualität haben zu einem ständigen Ansteigen der durchzuführenden Untersuchungen im klinischen Laboratorium geführt. Erstaunlich spät erst begannen die Mediziner nach Möglichkeiten der Analysenautomation zu suchen. „In den klinisch-chemischen Labors wird in den letzten Jahren eine Entwicklung nachgeholt, die sich in der industriellen Technik in den vergangenen 200 Jahren vollzogen hat“ (1). Obwohl die Industrie heute bereits ein breites Angebot an verschiedenen Analysenautomaten anbietet, sind wir von einer echten Automation noch weit entfernt.

Was versteht man unter Automation?

Die Definition des Begriffes Automation soll anhand eines möglichst einfachen Modelles, das vielen geläufig ist, versucht werden. So kann z. B. ein Thermostat bereits als ein Automat bezeichnet werden. Er hat die Aufgabe, die Temperatur eines Körpers oder eines Behälters, der mit Flüssigkeit gefüllt ist, konstant zu halten. Der Temperaturfühler ist über einen Draht mit einem sehr einfachen „Computer“ verbunden, meist einem Bimetallstreifen, der sich kontrahiert oder ausdehnt, d. h. anpassungsfähig ist und dadurch eine Heizung automatisch an- und abstellt. So kommt es zu einem geschlossenen Informationskreis, der einen Regelkreis ermöglicht.

Das Entscheidende bei der Automation ist der Informationsrückfluß vom Produkt bzw. Resultat auf den produzierenden Teil. Daher definiert L. C. PAYNE (2) Automation als „instrumenting information for decision and adjustment purposes“. Ein Automat ist demnach ein Gerät, das etwas produziert (im weitesten Sinne des Wortes), und bei dem andererseits eine

steuernde Rückkopplung vom Resultat auf den Produktionsvorgang möglich ist. Die bisher konstruierten Analysenautomaten erfüllen diese Bedingung nicht.

Was kann ein Analysenautomat?

Die heutigen Analysenautomaten können nur Verfahren durchführen, die auch manuell möglich sind, d. h. es werden nur solche Methoden an die Geräte adaptiert, die sich bereits vorher in der Routine bewährt haben.

Bei den meisten klinisch-chemischen Methoden müssen mehrere Schritte (Probenvorbereitung, Probenaufbereitung, Photometrie, Berechnung des Ergebnisses) durchgeführt werden, die sich wiederum, wie z. B. die Probenaufbereitung, aus mehreren Einzelschritten zusammensetzen können. Einige dieser Analysenschritte können heute weitgehend mechanisiert werden.

Die Mechanisierung beginnt im klinisch-chemischen Labor mit der Verwendung von Schüttelvorrichtungen, Pipettier- und Verdünnungsgeräten. Letztere werden im deutschsprachigen Raum oft als Halbautomaten bezeichnet; HARDY (3) wählte die etwas bessere Formulierung „limited function systems“. Man sollte aber nicht von einem Verdünnungsautomaten, sondern eher von einem Verdünnungsgerät bzw. einem Dilutor sprechen.

Sind mehrere Schritte einer klinisch-chemischen Analyse zu einem mechanisierten System integriert, spricht man von einem Analysenautomat, allerdings im Bewußtsein, daß es sich dabei nur um die weitgehende Mechanisierung einer chemischen Bestimmung handelt. Diese Mechanisierung ist noch keine Automation, da sie eine fixierte, roboterähnliche Maschine darstellt, die im besten Falle die Aktionen einhält, die aufgrund der anfänglichen Einstellung determiniert wurden. Erst wenn ein Informationsfluß vom Meßergebnis auf den

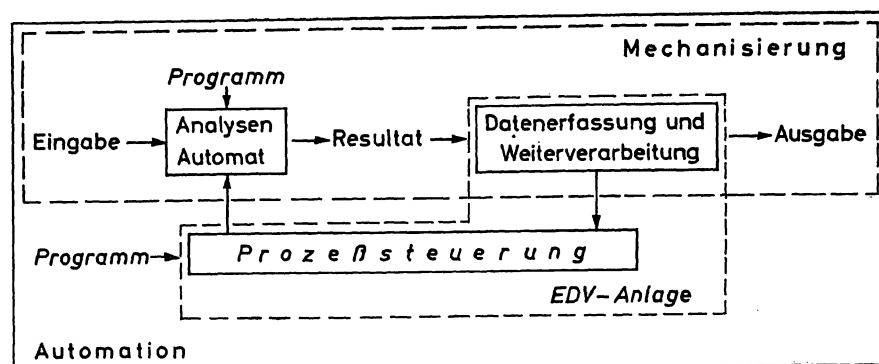


Abb. 1
Die Beziehung zwischen Mechanisierung und Automation bei chemischen Analysen, modifiziert nach RICHTERICH und GREINER (5)

Analysenprozeß erfolgt und dieser dadurch beeinflusst werden kann, kann man von Automation sprechen; ohne diesen Informationsrückfluß ist keine Adaptation möglich.

Die meisten Analysenautomaten beginnen die Analyse erst ab der Probenaufbereitung, führen also nur sogenannte direkte Methoden durch. Die Probenvorbereitung gehört zu den Schritten, die sich technisch am schwierigsten mechanisieren lassen. Nur bei wenigen Geräten ist eine Abtrennung der Proteine bzw. der Blutkörperchen mit in das System einbezogen. Dies geschieht beim DSA 560 (Abb. 2) durch Filtration nach Denaturierung der Eiweiße, beim AutoAnalyzer mit Hilfe von Dialyse durch semipermeable Cellophanmembranen und beim 617-Automatik-Analyzer (Abb. 2) in einer Durchflußzentrifuge. Alle Analysenautomaten können photometrieren und registrieren das Ergebnis in irgendeiner Form, neuere Typen berechnen auch das fertige Resultat und drucken es in entsprechenden Einheiten aus.

Ein Analysenautomat kann daher — abweichend von der obigen Definition eines Automaten — als ein Gerät bezeichnet werden, das mehrere Schritte einer chemischen Bestimmung selbständig bis zur Resultat- ausgabe durchführt. Er ist ein repetitives Maschinensystem ohne adaptive Fähigkeiten, d. h. ohne eine sogenannte Prozeßsteuerung.

Diese Definition beinhaltet, daß ein Gerät, das alle Schritte mit Ausnahme der photometrischen Messung durchführt, kein Analysenautomat ist. Umgekehrt sollte ein weitgehend automatisierter Meßplatz zur alleinigen photometrischen Messung von bereits aufbereiteten Proben als solcher und nicht als Analysenautomat bezeichnet werden. Auch der von NEFF und Mitarbeitern (4) beschriebene Automatic Blood Analyzer (ABA), ein Elektrodensystem, das im Durchflußverfahren pH, pO_2 , pCO_2 , Natrium- und Kaliumionenaktivität simultan aus einer Probe bestimmt, stellt u. E. einen automatisierten Meßplatz dar. Der Enzymautomat LKB 8600 (Abb. 2), bei dem die Proben per Hand vordosiert werden müssen, ist ein Grenzfall. Da aber die Reagenzienzugabe und die Registrierung der Kinetik mechanisiert sind, kann man noch von einem Analysenautomat sprechen. RICHTERICH und GREINER (5) ersetzen den Begriff „Analysenautomat“ durch „Analysator“, der dem im englischen

Sprachraum verbreiteten „Analyzer“ entspricht. Inzwischen ist aber die Bezeichnung „Analysenautomat“ in Deutschland schon weit verbreitet. Auch in absehbarer Zeit wird es keine Analysenautomaten geben, die der obigen Definition eines echten Automaten genügen. Die Entwicklung scheint dahin zu gehen, daß die Steuerung der Analysenautomaten später von EDV-Anlagen oder Zusatzgeräten übernommen wird, die dann zusammen ein Automations-System bilden (Abb. 1). Der Anschluß eines Analysenautomaten an eine EDV-Anlage bedeutet zwar noch keine Automation, solange diese nur zur Auswertung, Sammlung und Ordnung der gewonnenen Daten dient, ist aber ein wichtiger Schritt beim Aufbau eines Automations-Systems.

Systematik der Analysenautomaten

Die Industrie hat bereits eine Fülle der verschiedensten Analysenautomaten von unterschiedlicher Kapazität konstruiert. Im folgenden wird versucht, diese anhand eines einfachen Schemas bei weitgehender Verwendung bereits üblicher Bezeichnungen zu klassifizieren (Abb. 2).

Grundsätzlich lassen sich rein diskrete von Durchfluß- bzw. Flow-Systemen unterscheiden. Außerdem gibt es kombinierte Typen mit diskreter Probenaufbereitung und photometrischer Messung in einer Durchflußküvette. Diese letzteren Systeme, von denen einige in Abbildung 2 aufgeführt sind, werden von der Industrie am häufigsten angeboten. Das älteste Verfahren ist das Flow-System, das durch die Firma Technicon unter dem Namen „AutoAnalyzer“ in der ganzen Welt verkauft wurde. 1957 wurde zum erstenmal die Bestimmung von Harnstoff nach der Diacetylmonoxim-Methode mit dem AutoAnalyzer von SKEGGS (6) beschrieben. Dieses Verfahren ist auch heute noch eines der zuverlässigsten im klinisch-chemischen Routinelaboratorium.

Beim AutoAnalyzer fördert eine Mehrkanal-Proportionierpumpe kontinuierlich Proben und Reagenzien in einem offenen, kommunizierenden System aus Schläuchen und Glasschlangen. Lediglich die Probenaufnahme erfolgt diskontinuierlich in einem je nach Methode festgelegten Rhythmus. Proben und Reagenzien werden mittels Tygonschläuchen gleicher Wandstärke,

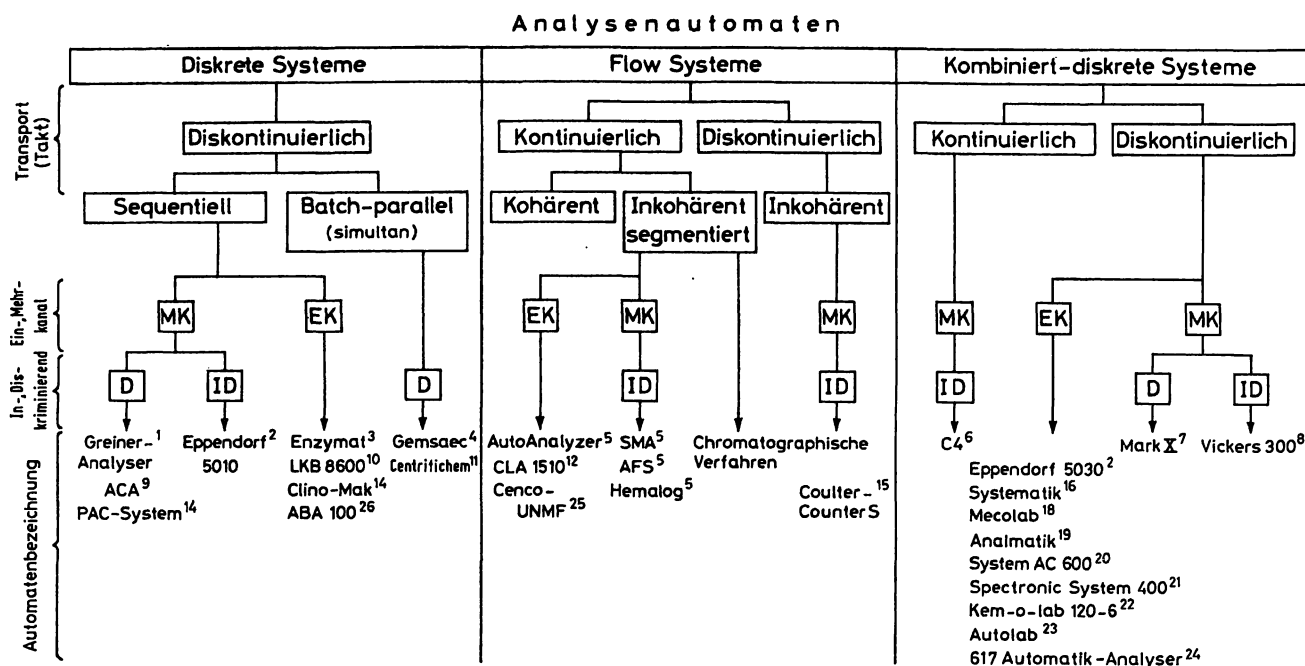


Abb. 2

Einteilungsschema der bisher konstruierten Analysenautomaten, vervollständigt nach (30)

- | | |
|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. GREINER Electronic (CH, 4900 Langenthal) 2. EPPENDORF Gerätebau (BRD, 2 Hamburg) 3. JOECE-LOEBLE (GB, Gateshead) 4. Elektro Nucleonics (USA, Fairfield 07006) 5. Technicon Corp. (USA, Ardsley) 6. PERKIN-ELMER (BRD, Überlingen) 7. Hycel Inc. (USA, Houston 77042) 8. Vickers Medical Engineering (GB, Basingstoke) 9. Dupont Instruments (USA, Wilmington 19898) 10. LKB-Produkte (S, 16125 Bromma) 11. Union Carbide (USA, Tarrytown 10591) 12. Erba (I, 20100 Mailand) 13. BECKMAN Instruments (USA, Fullerton 92634) | <ol style="list-style-type: none"> 14. Polimak International (I, 00197 Rom) 15. Coulter Electronic (GB, Dunstable) 16. Braun (BRD, Melsungen) 17. AGA (S, 18120 Lidingö) 18. JOECE-LOEBLE (GB, Gateshead) 19. BAIRD u. TATLOCK (GB, Chadwell Heath) 20. Philips Unicam Instruments (GB, Cambridge) 21. BAUSCH u. LOMB (USA, Rochester 14625) 22. BIE u. BENTSEN (DK, Kopenhagen) 23. Ljungberg & Co. (S, Stockholm) 24. Jobling (GB, Stone) 25. Cenco Instrumenten (NL, Breda) 26. ABBOTT (USA, South Pasadena 91030) |
|---|--|

jedoch mit verschiedenen Innendurchmessern (0,1 bis 2,9 ml/Min.) dosiert, unter kontrollierten Bedingungen gemischt und einer chemischen Reaktion unterworfen. In regelmäßigen Abständen werden Luftsegmente in das System eingeführt.

Diese bilden erstens einen trennenden Puffer zwischen den einzelnen Proben, reinigen zweitens das System und fördern drittens die Mischung bei der wiederholten Umkehrung der Flüssigkeitssegmente in den Glas-spiralen.

Nach der Reaktion werden die Luftblasen wieder aus dem System entfernt, bevor der gebildete Farbstoff kontinuierlich in einer Durchflußküvette gemessen und mit einem Schreiber registriert wird. Die dabei entstehenden Peaks zeigen einen exponentiellen

$$(y = E \cdot e^{t/b})$$

An- und Abstieg (8, 29). Aus der semilogarithmischen Darstellung (Abb. 3) lassen sich 2 konstante Größen ableiten (8, 29), mit denen die Fließeigenschaften des Systems definiert werden können:

1. die Lag-Phase, die sich in erster Linie vom segmentierten Strom ableitet, und
2. die half-wash-time ($W_{1/2}$), d. h. die Zeit, in der die Kurve von irgendeinem Punkt bis zum halben Wert abfällt. Diese Größe leitet sich hauptsächlich vom nicht segmentierten Teil der Strombahn ab und beeinflusst die maximale sampling rate dominierend.

Bei den neueren Gerätetypen, dem AutoAnalyzer II und der SMA-Serie führt ein verbessertes Flow-Schema zu einer Senkung der half-wash-time und damit zu einem breiten Plateau, das die Messung im sog. steady state ermöglicht.

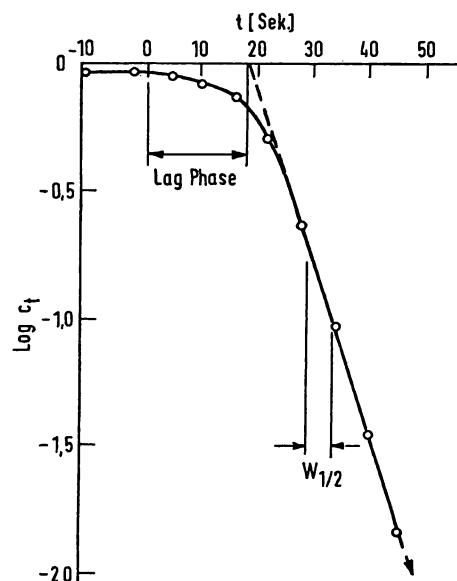


Abb. 3

Semilogarithmische Darstellung des abfallenden Schenkels eines AutoAnalyzer-Peaks nach THIERS und Mitarbeiter (7)

Der AutoAnalyzer wurde zu verschiedenen Mehrkanal-Variationen weiterentwickelt, deren bekanntester Vertreter inzwischen der SMA-12 wurde. Dieses Gerät führt 12 Tests an 60 Proben pro Stunde durch und besteht aus 16 parallel angeordneten Kanälen. Die 4 zusätzlichen Kanäle werden für Probenleerwerte verwendet. Der Ausfall eines oder mehrerer Kanäle beeinflusst die restlichen nicht.

Seit kurzem kann durch eine Automatisierung der Eichung der Bedienungskomfort erheblich gesteigert werden. Dazu muß eine zusätzliche Einheit (Autocal) erworben werden, die einen weiteren wichtigen Schritt in Richtung auf ein vollautomatisches System erzielt.

Während das Charakteristikum der Flow-Systeme ein kommunizierendes System von Schläuchen und Glasrohren ist, werden bei diskreten Verfahren die Proben in separaten Gefäßen aufbereitet. Das Küvettenrotorverfahren ist ein viel versprechendes System, das in den USA von ANDERSON (8, 9) entwickelt wurde und dort bereits unter dem Firmennamen GEMSAEC (Elektro Nucleonics Inc., USA) und Centrifichem (Union Carbide Corp., USA) erhältlich ist. Dieser Analysenautomat verwendet die Zentrifugalkraft, um Proben und Reagenzien in einem Küvettenrotor zu befördern. Die Lösungen werden durch Luftblasen gemischt und die Kinetik der ablaufenden Reaktionen diskontinuierlich in sehr kurzen Abständen registriert. Da in einem Rotor bis zu 40 Proben (11) simultan aufbereitet werden können, spricht man von einem batch-parallel-Verfahren, das sich von der sequentiellen Analyse der meisten anderen Gerätetypen unterscheidet.

Die Bezeichnungen „kontinuierlich“ und „diskontinuierlich“ (Abb. 2) beziehen sich auf den Takt des Probentransportes¹⁾ durch das System. Sowohl diskrete als auch Flow-Systeme können nach beiden Verfahren arbeiten. So ist der AutoAnalyzer ein kontinuierliches Flow-System, das C4-Gerät von Perkin-Elmer ein kontinuierliches, kombiniertes System. Die photometrische Messung erfolgt bei kombinierten Systemen mit Hilfe von diskontinuierlichen Flow-Systemen. Die Einteilung in kontinuierliche und diskontinuierliche Verfahren ist jedoch unwesentlich.

Sind die einzelnen Proben in einem Flow-System voneinander getrennt (z. B. durch Luft und/oder Flüssigkeit), d. h. nicht ineinanderfließend, wird der Transport gelegentlich als diskret bezeichnet. Man sollte ihn eher inkoherent nennen, um eine Verwechslung mit einem diskreten Transport in separaten Gefäßen zu vermeiden. Demnach gibt es in kombinierten Systemen inkoherente, diskontinuierliche Flow-Systeme. Von einem segmentierten Transport sollte man dann sprechen, wenn ein kontinuierlicher Flüssigkeitsstrom regelmäßig, z. B. durch Luftblasen, unterbrochen wird. So findet man beim AutoAnalyzer sowohl segmentierte als auch nicht segmentierte Strombahnen.

¹⁾ Nach RICHTERICH (5) sollte zwischen Transport und Transfer von Proben (bzw. Daten) unterschieden werden: Transport erfolgt innerhalb eines Systems (z. B. in einem Schlauchsystem).

Mehrkanalgeräte können weiterhin in diskriminierende und indiskriminierende unterteilt werden (Abb. 2). Bei einem diskriminierenden Analysenautomat kann aus den möglichen Kanälen ausgewählt werden, welche Bestimmungen in der jeweiligen Probe durchgeführt werden sollen.

ANDERSON (8) teilte die mechanisierten, analytischen Systeme in zwei Gruppen ein: class I-Geräte analysieren eine große Anzahl von Proben auf eine einzige Substanz oder Aktivität, während class II-Geräte in einer Probe mehrere Komponenten bestimmen. Die zweite Gruppe, zu denen die Mehrkanalautomaten und die mechanisierten Chromatographie-Verfahren (Abb. 2) zählen, werden auch als high-resolution analytical systems bezeichnet.

Qualitätskontrolle mechanisierter Analysen

Die Qualitätskontrolle ist in der klinischen Chemie in den letzten Jahren ein wichtiges Aufgabengebiet geworden, das bei den mechanisierten Analysen an Bedeutung noch gewonnen hat. Die Industrie liefert zwar die verschiedensten Analysenautomaten, gibt uns aber noch wenig Anweisungen, wie wir uns gegen die vielen möglichen Fehler schützen können. Daher müssen Kontrollschemas für jedes Gerät und für jede Methode erarbeitet werden, worauf schon BÜTTNER (11) hingewiesen hat. Erst wenn eine bestimmte Qualität erreicht ist, kann eine wirksame Kontrolle durchgeführt werden (12). Soll eine neue Methode an einem Analysenautomaten eingefahren werden, untersuchen wir zunächst in einer ersten Phase Präzision, Richtigkeit, Drift und Verschleppungseffekte. Danach wird eine vorläufige Probenfolge festgelegt, die in einer zweiten Phase über 20 Tage eingehalten wird (Abb. 4). Dabei wird eine Serie in drei Segmente unterteilt. Jedes Segment beginnt mit einigen Eichstandards. Die Methoden sollten so ausgelegt werden, daß die Eichkurven linear sind und daher eine Konzentration zur Kalibrierung ausreicht. Beim Standard-AutoAnalyzer I verlaufen die Eichkurven selten linear, meist beschreiben sie ein Polynom dritter Ordnung (13). Wenn die Eichkurve stark gekrümmt ist, und nur wenige Eichpunkte verwendet werden, kann die lineare Interpolation zu einer Minderung der Präzision führen (13, 14).

Im Anfangssegment A befinden sich die Kontrollen für Präzision und anschließend für Richtigkeit, sowie für Drift und Verschleppung. Danach folgt ein Zwischensegment B, das, falls erforderlich, beliebig wiederholt werden kann. Das Endsegment C enthält nochmals eine Drift- und Verschleppungskontrolle. Sind für die vollständige Beschickung des Endsegmentes nicht mehr genügend Proben vorhanden, wird mit Poolserum aufgefüllt, bis die Zahl n erreicht ist. Die Segmentlänge (n) ist jeweils von der Drift abhängig.

Das vorgeschlagene Schema (Abb. 4) kann je nach Methode und Gerät modifiziert werden. Wird ein neues Gerät eingefahren, sollte man am Anfang bewußt viele Kontrollen einsetzen, um Informationen zu

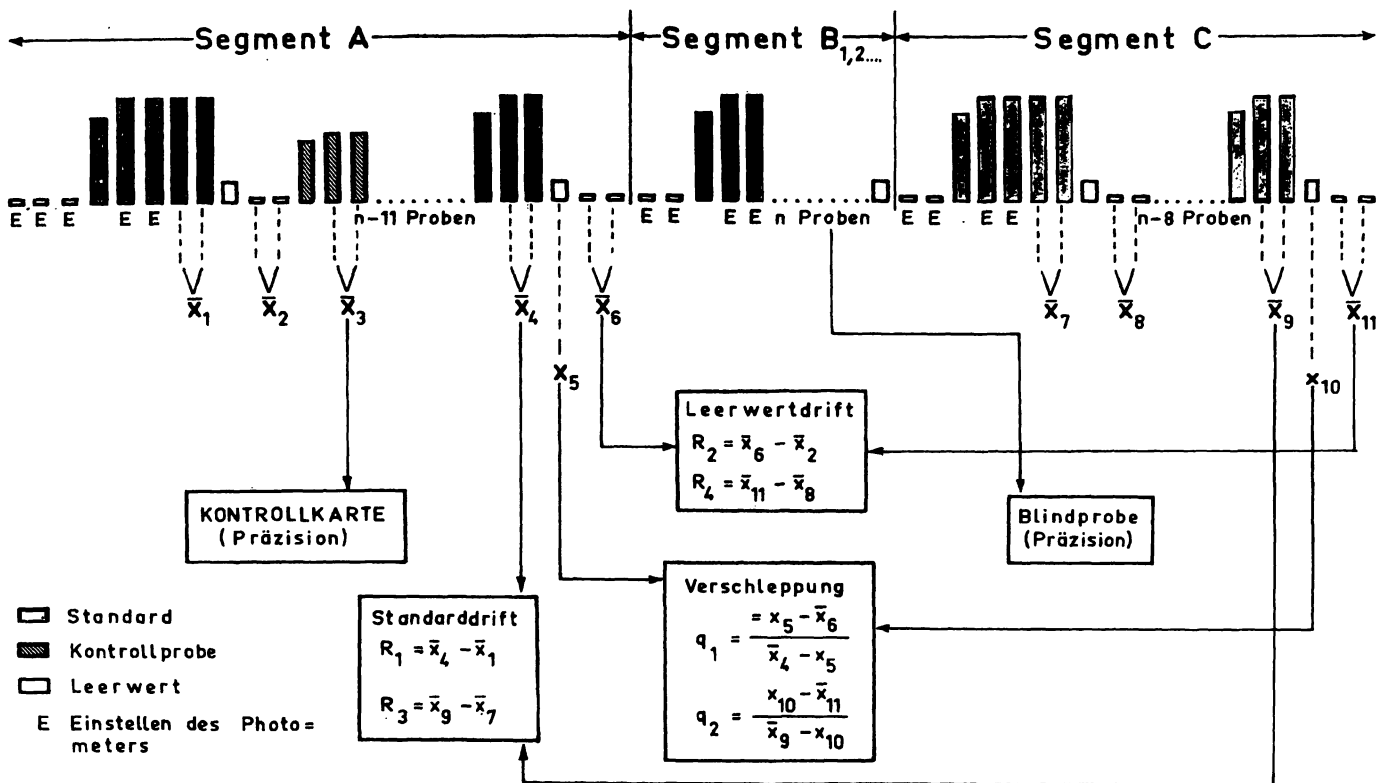


Abb. 4

Serielle Probenfolge zur Ermittlung der Zuverlässigkeit beim Einfahren eines Analysenautomaten

sammeln. Danach kann dann vereinfacht werden, z. B. durch Weglassen von Wasserwerten oder durch Reduzierung der Anzahl der Standards, und die für die Routine erforderliche Probenfolge festgelegt werden. Die Zuverlässigkeit, d. h. Präzision und Richtigkeit, wird bei mechanisierten Analysen, die ja meist in Serien durchgeführt werden, nach den gleichen Kriterien kontrolliert wie bei manuellen Verfahren. Kontrollproben für die Präzision sollten grundsätzlich mehrfach hintereinander in einer Serie analysiert werden, um die Wahrscheinlichkeit von Fehlern zweiter Art („Verbraucherrisiko“) zu verringern (15). Dieser Mehraufwand erscheint uns bei mechanisierten Verfahren vertretbar zu sein. Da wir die Kontrollserien an den Anfang einer Probenserie setzen, muß an deren Ende nochmals eine Kontrolle (Serum oder Standardlösung) folgen, die gleichzeitig als Driftkontrolle dient.

Die Mittelwerte der Präzisionsserien werden in die SHEWHARTSchen Kontrollkarten eingetragen. Außerdem können Cusum-Karten (16) verwendet werden, die gegenüber dem SHEWHARTSchen Verfahren den Vorteil bieten, daß sie über mehrere Chargen (mit unterschiedlichen Konzentrationen) benutzt werden können und Trends früher sichtbar werden (16, 17). Zusätzlich können die Patientenwerte aus einer Serie für statistische Kontrollzwecke verwendet werden. Entweder wird der Mittelwert (18, 19) von allen Daten (mindestens 30 Werte) oder nur von den Normalwerten (mindestens 10) in eine Kontrollkarte (20) eingetragen. Nach

STAMM (21) sind diese Verfahren jedoch der SHEWHARTSchen Methode unterlegen.

Außer der Zuverlässigkeit sind bei Analysenautomaten 2 systematische Fehler besonders zu beachten, nämlich Drift- und Verschleppungseffekte. Bei einem Analysenautomat kann man 3 Drifttypen beobachten (13):

1. Drift der Grundlinie (Baseline-drift) = Drift des Leerwertes.
2. Drift der Methodenempfindlichkeit (Sensitivity-drift) = Drift des Standards.
3. Kombination von 1 und 2: Der Standard driftet stärker als der Leerwert.

Die Driftursache ist im Einzelfalle oft nicht leicht eruierbar, obwohl beim Flow-System einige Faktoren bekannt sind, die die Drift beeinflussen können (Tab. 1). Da gelegentlich eine systematische Drift von einer methodischen Streuung in der Serie schwer zu unterscheiden ist, sollten stets mehrere Driftstandards eingesetzt werden. Außerdem muß bei langen Serien geprüft werden, ob die Drift gegen Ende der Serie zunimmt (vgl. Abb. 3). Bei Eichkurven, die einer Gleichung

Tab. 1
Drift beeinflussende Faktoren bei Analysenautomaten

1. Typ und Alter der Reagenzien	(22)
2. Typ und Alter von Pumpschläuchen	(28)
3. Geschwindigkeitsänderung einer Proportionierpumpe durch Überladung	(13)
4. Veränderung in der Probenzusammensetzung	(22)
5. Schwankungen der Raumtemperatur	(13)
6. Ungenügende Aufwärmperiode	(13)
7. Photometerdrift	

Tab. 2
Verschleppungsfehler bei mechanisierten Analysenverfahren

1. Verschleppung von Probe-zu-Probe
 - 1.1. Kontamination der Proben
 - 1.1.1. durch Probenmaterial (cross contamination)
 - 1.1.2. durch Reagenzien (sample diluent contamination)
 - 1.2. Verschleppung im analytischen System (carry over, interaction)
2. Zyklische Verschleppung

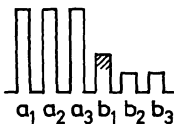
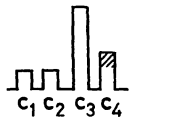
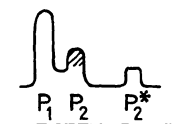
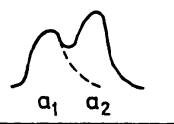
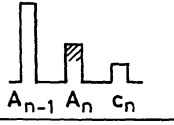
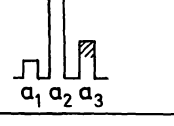
chung höherer Ordnung folgen, sind zur Driftkorrektur mindestens 4 verschiedene Standards, d. h. im allgemeinen eine Wiederholung der Standardkurve erforderlich (13). Um die Schwierigkeiten der Driftkorrektur zu vermeiden, empfiehlt HJELM (22), die Segmente so zu wählen, daß Driftfehler vernachlässigt werden können. Wir richten diesem Vorschlag folgend die Segmente in einer Analysenserie so ein, daß die Verfälschung der Ergebnisse durch die Drift kleiner als 1%, bei größerer methodischer Streuung bis maximal 3% bleibt. Der Driftstandard liegt dabei im mittleren Meßbereich.

Wenn zwei Proben oder deren Reaktionsprodukte hintereinander mit einer gemeinsamen Oberfläche in Kontakt kommen, werden dabei Partikel aus der 1. in die 2. Probe verschleppt. Dadurch wird das Ergebnis der 2. Probe verfälscht. DANKWERTS (14) spricht von einem „hold-back“-Effekt, da einige Elemente der Flüssigkeit länger im System verbleiben als die anderen.

Theoretisch lassen sich bei Verschleppungsfehlern verschiedene Typen unterscheiden (Tab. 2). Eine zyklische Verschleppung könnte dann beobachtet werden, wenn Reaktions- oder Küvettengefäße in regelmäßigem Zyklus nach entsprechendem Spülvorgang wieder verwendet werden (23). Bisher wurde jedoch noch nicht über eine sichtbare Verfälschung von Ergebnissen durch einen solchen Verschleppungsfehler berichtet. Dagegen spielt die Verschleppung von Probe zu Probe eine erhebliche Rolle.

Verschleppungsfehler werden festgestellt, in dem man Proben mit verschiedenen Konzentrationen aufeinander folgen läßt, z. B. 5 niedrige, 5 hohe und zuletzt wieder 5 niedrige Standardlösungen. Dabei verwenden wir eine hohe Konzentration, die am Ende des linearen Teiles der Eichkurve liegt. Die Proben mit niedriger Konzentration enthalten im allgemeinen den 10. Teil derjenigen mit der hohen Konzentration. Gelegentlich müssen bei Flow-Systemen aber auch kleinere Konzentrationsunterschiede gewählt werden.

Betrachtet man die erhaltenen Extinktionen zweier aufeinanderfolgender Proben gleicher Zusammensetzung (Abb. 5), so wird nach BENNET und Mitarbeitern (13) der erste Wert bereits durch einen (negativen) Verschleppungseffekt beeinflusst, da vor der ersten

Probenfolge	Formel	Benennung	Formel zur Korrektur des Verschleppungsfehlers	Referenz
	$K = \frac{b_1 - b_3}{a_3 - b_3}$			Broughton und Mitarbeiter (25)
	$q = \frac{c_4 - c_2}{c_3 - c_4}$	Interaction Coefficient	$A_n^* = A_n - q (A_{n-1} - A_n)^{1)}$	Hjelm (22)
	$CO = P_1 \cdot e^{-p/b}$	Carry Over	$P_2^* = P_2 - P_1 \cdot e^{-p/b}$	Walker und Mitarbeiter (29)
	$\%CO = \frac{a_2 - a_1}{a_1} \cdot 100$	Percentage Carry Over		Bennet (13)
			$c_n = \frac{A_n - m \cdot A_{n-1} - b}{(1 - m) \cdot a}$	Wallace (28)
	$\%I = \frac{a_3 - a_1}{a_2} \cdot 100$	Per Cent Interaction	$c_n^* = c_n - \frac{c_{n-1} \cdot \%I}{100}$	Thiers und Oglesby (24) Blalvas und Mencz (26)

A, a assay value

c Konzentration

*korrigierter Wert

Abb. 5

Verschiedene Verfahren zur Berechnung und Korrektur des Verschleppungsfehlers

¹⁾ Die im Original vertauschten Vorzeichen sind in der hier angegebenen Formel korrigiert.

Probe Wasser angesaugt wurde. Es handelt sich also um einen Verdünnungseffekt aufgrund konstanter Volumen-Kontamination. Der zweite Wert ist stets höher als der erste. Die Autoren betrachten den ersten Wert als den wahren „response“ des Systems; der Verschleppungsfehler ist dabei immer positiv.

Verschleppungseffekte können auf verschiedene Weise korrigiert werden (Abb. 5). In der Praxis wird sehr oft, insbesondere wenn keine EDV-Anlage zur Verfügung steht, dieser Fehler nicht berücksichtigt, ohne daß man sich über dessen Größe bewußt ist. Postuliert man, daß dieser Fehler innerhalb der methodischen Streuung in der Serie (z. B. innerhalb des 2s-Bereiches) liegen sollte, so läßt sich der nach HJELM (22) berechnete prozentuale Verschleppungskoeffizient Q umformulieren nach (23):

$$F_1 = 1 - \frac{2s \cdot (100 + Q_1)}{c_1 \cdot Q_1} \text{ bzw.}$$

$$F_2 = 1 + \frac{2s \cdot (100 + Q_2)}{c_2 \cdot Q_2}$$

Diese Gleichungen geben den Faktor an, um den aufeinanderfolgende Proben in ihrem Gehalt differieren dürfen, damit der Verschleppungsfehler vernachlässigt werden kann, F_1 für die Verschleppung von niedrigen zu hohen, und F_2 für die Verschleppung von hohen zu niedrigen Konzentrationen. Berechnet man mit Hilfe dieser Faktoren die sogenannten Grenzkonzentrationen innerhalb des gültigen Meßbereiches und trägt sie graphisch nach (23) auf, so erhält man einen verschleppungssicheren Bereich. Liegen die Konzentrationen außerhalb dieses Bereiches muß der Verschleppungsfehler beachtet werden, entweder durch Wiederholung der entsprechenden Analyse oder durch rechnerische Korrektur.

Als Kontamination bezeichnet man die Verschleppung von Verdünnungs- oder Probenmaterial bei der Probenaufnahme, die bei den meisten Analysenautomaten mit dem gleichen System durchgeführt wird. Dieses taucht nacheinander in die Proben ein und entnimmt ein entsprechendes Aliquot. Die dabei entstehende Ver-

schleppung ist aber so gering, daß in der Praxis meist nicht mehr mit einer nennenswerten Verfälschung der Ergebnisse gerechnet werden muß.

Während eine Reihe von Analysenautomaten heute bereits technisch so ausgereift sind, daß sie an eine EDV-Anlage angeschlossen werden können, sind Kontrollschemata noch nicht genügend ausgearbeitet worden. Diese sind aber die Voraussetzung für eine spätere Rückkopplung im Sinne einer vollen Automation, die uns als Endziel vorschwebt.

Vor- und Nachteile der einzelnen Analysenautomaten lassen sich nicht in der Kürze abhandeln²⁾. Als Faustregel gilt, daß die diskreten und die kombinierten Typen (Abb. 2) eine größere Systemstabilität aufweisen als die Flow-Systeme. Daraus ergeben sich 2 deutliche Vorteile der ersteren Gruppe: erstens geringere Drifteffekte und zweitens die Möglichkeit, absolute Volumina zu dosieren. Demgegenüber sind diese Systeme z. Z. noch störanfälliger als Flow-Systeme.

Moderne Flow-Systeme (z. B. AutoAnalyzer II, SMA-12-Reihe) und kombinierte Systeme liefern eine vergleichbare Zuverlässigkeit.

In Tabelle 3 sind die Präzisionen einiger Elektrolytbestimmungen mit dem Analysenautomaten C 4 (Abb. 2), dem SMA-12/60 (Abb. 2) und teilmechanisierten Geräten einander gegenübergestellt. Systematische Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen, die einen kritischen Vergleich zulassen, sind dringend erforderlich. Die Richtigkeit der Ergebnisse hängt weitgehend von der angewandten Methode ab. Ein großes Problem bereitet noch die Eichung von Mehrkanalgeräten mit sekundären Standardproben, deren Gehalt von anderen Laboratorien mit schwankender Zuverlässigkeit ermittelt wird.

Der Nutzen eines Einkanalsystems bei einer Frequenz von 50 Proben pro Serie ist oft schwer zu objektivieren, wenn man die Wartungszeit und den Ausfall des Gerätes infolge technischer Pannen mit der Analysenzahl

²⁾ Eine tabellarische Übersicht findet sich bei l. c. (30).

Tab. 3

Die Präzision von Tag-zu-Tag der Natrium-, Kalium- und Chloridbestimmung mit verschiedenen Analysengeräten. A: Hyland Kontrollserum, Charge Nr. 8 A 1; B: Hyland Kontrollserum, Charge Nr. 29 A 1; C: Hyland Kontrollserum, Charge Nr. 23 A 1. Es handelt sich um Mittelwerte (\bar{x}) aus 20 Einzelbestimmungen an verschiedenen Tagen

		SMA-12/60 ³⁾		C 4 ³⁾		Printout Clinical Chloride Titrator ³⁾		II-Flammenphotometer Modell 143 ⁴⁾	
		\bar{x} (mMol/l)	VK (%)	\bar{x} (mMol/l)	VK (%)	\bar{x} (mMol/l)	VK (%)	\bar{x} (mMol/l)	VK (%)
Natrium	A	140	1,0	142	1,8			142	1,0
	B	142	1,0	144	1,5			144	1,2
	C	152	1,5	154	1,4			155	1,2
Kalium	A	3,9	2,4	4,1	1,8			4,1	2,3
	B	3,8	2,8	4,0	1,4			4,0	2,0
	C	5,7	2,4	5,7	1,2			5,5	1,8
Chlorid ⁵⁾	A	106	1,7	107	1,7	106	1,0		
	B	102	1,4	103	2,0	101	0,9		
	C	129	1,1	128	1,8	127	1,2		

¹⁾ Bedienung des Gerätes nach Angaben des Herstellers (Technicon Instruments), Kalibrierung mit Automated Chemistry Reference Serum von Hyland (Lot Nr. 3676 MO 36 A 1).

²⁾ Methodik siehe l. c. (31).

³⁾ und ⁴⁾ Bedienung der Geräte nach Angaben der Hersteller (American Instrument Co., Silver Spring, USA, bei ³⁾ und Instrumentation Laboratory Inc., Boston, USA, bei ⁴⁾ Kalibrierung mit primären Standardlösungen.

⁵⁾ Rhodanidmethode mit (C 4) und ohne (SMA-12/60; Dialyse) Probenleerwert. Chloridtitrator: coulometrisches Verfahren.

ins Verhältnis setzt. Bei einem Mehrkanalsystem, das nur wenig mehr an Bedienungsaufwand erfordert, überwiegen die Vorteile gegenüber der manuellen Technik. So kann z. B. eine technische Assistentin mit einem SMA-12/60 Gerät aus 60 Proben 720 Analysen/Stunde anfertigen. Der Autochemist, der allerdings mehr Bedienungspersonal erfordert, liefert sogar bis 6000 Analysen/Stunde. Diese Kapazitäten könnten bei manueller Arbeitsweise nur mit einem Vielfachen an Bedienungspersonal und Laborraum erreicht werden. Wartung und Ausfälle dieser Geräte aufgrund technischen Versagens scheinen in einem günstigen Verhältnis zur Analysenzahl zu stehen. Systematische Untersuchungen wurden hierzu bisher nicht mitgeteilt.

Die Industrie hat durch die Vielzahl der verschiedenen Typen an Analysenautomaten einen echten Wettbewerb entfacht, der in den letzten Jahren zu erheblichen Fortschritten bei der Mechanisierung von Analysen geführt hat. Bei strenger Definition der Begriffe können wir aber — wie oben ausgeführt — dabei noch nicht von Automation sprechen. Das feed-back und die damit verbundene Prozeßsteuerung sind noch die Crux der Automation. Die Antwort, warum heute nicht bereits jede Handarbeit automatisiert ist, beruht darin, daß viele Arbeitsprozesse eine ungenügende Stabilität besitzen, und dadurch ein hohes Maß an Adaptation erfordern. Nach wie vor ist der Mensch trotz aller seiner physischen und psychischen Beschränkungen das sich am leichtesten anpassende „input-output-System“.

Literatur

1. KELLER, H., Automaten im klinischen Labor, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart (1971). — 2. PAYNE, L. C., An introduction to medical automation, Pitman Medical Publishing Co., p. 3 (1966). — 3. HARDY, S. M., Z. Analyt. Chem. 243, 713 (1968).
4. NEFF, G. W., W. A. RADKE, C. J. SAMBUCETTI und G. M. WIDDOWSON, Clin. Chem., New York 16, 566 (1970). — 5. RICHTERICH, R. und R. GREINER, diese Z. 8, 588 (1970). — 6. SKEGGS, L. T., Amer. J. Clin. Path. 28, 311 (1957). — 7. THIERS, R. E., R. R. COLE und W. J. KIRSCH, Clin. Chem., New York 13, 451 (1967). — 8. ANDERSON, N. G., Amer. J. Clin. Path. 53, 778 (1970). — 9. ANDERSON, N. G., Analytic. Biochem. 28, 545 (1969). — 10. BURTIS, C. A., W. F. JOHNSON, J. E. ATTRILL, C. D. SCOTT, N. CHO und N. G. ANDERSON, Clin. Chem., New York 17, 686 (1971). — 11. BÜTTNER, H., diese Z. 7, 89 (1968). — 12. COOPER, G. R., Z. Analyt. Chem. 243, 816 (1968). — 13. BENNET, A., D. GARTELMANN, J. I. MASON und J. A. OWEN, Clin. Chim. Acta, Amsterdam 29, 161 (1970). — 14. DANCKWERTS, I. V., Chem. Eng. Sci. 2, 1 (1953). — 15. BÜTTNER, H., diese Z. 5, 41 (1967). — 16. BÜTTNER, H., Z. Analyt. Chem. 212, 109 (1965). — 17. EWAN, W. D., Technometrics 5, 1 (1963). — 18. WHITBY, L. G., F. L. MITCHELL und D. W. MOSS, Adv. Clin. Chem. 10, 108 (1967). — 19. BROUGHTON, P. M. G. und A. H. GOWENLOCK, Z. Analyt. Chem., 243, 811 (1968). — 20. HOFFMANN, R. G. und M. E. WAID, Amer. J. Clin. Pathol. 43, 134 (1965). — 21. STAMM, D., Z. Analyt. Chem. 243, 805 (1968). — 22. HJELM, M., Z. Analyt. Chem. 243, 713 (1968). — 23. HAECKEL, R. und A. J. PORTH, diese Z. 10, 91 (1972). — 24. THIERS, R. E. und K. M. OGLESBY, Clin. Chem., New York 10, 246 (1964). — 25. BROUGHTON, P. M. G., M. A. BUTTOLPH, A. H. GOWENLOCK, D. U. NEILL und R. G. SKENTELBERG, J. Clin. Path., London 22, 278 (1969). — 26. BLAIWAS, M. A. und A. H. MENCZ, in Techn. Symp. „Automation in Analytical Chemistry“, New York p. 368 (1966). — 27. WESTLAKE, G., D. K. MCKAY, PH. SURH und D. SELIGSON, Clin. Chem., New York 15, 600 (1969). — 28. WALLACE, V., Analytic. Biochem. 20, 517 (1967). — 29. WALKER, W. H. C., C. A. PENNOCK und G. K. MCGOWAN, Clin. Chem. Acta, Amsterdam 27, 421 (1970). — 30. HAECKEL, R., Diagnostica, im Druck. — 31. HAECKEL, R., diese Z. 10, 86 (1972).

Priv.-Doz. Dr. R. Haeckel
3 Hannover
Roderbruchstr. 101